REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen

Faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers

Département de Biologie

Laboratoire:

Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

Antibiotiques Antiforgiques
physico-phinds
synthese et settivité bidogique

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Biologie

Option : Biochimie Appliquée

Thème

Ins. 7893.

giques des cathéters

Evaluation des types d'infectivités fongiques des cathéters dans l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia,

Étude comparative

Présenté par

Mr RAHMOUN Abdelkrim

Soutenue en 2014

Devant le jury :

Présidente : M^{me} Boucherit-Otmani Z.

Professeur, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen

Examinatrice: M^{me} Hassaine Hafida

Professeur, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen

Promoteur : Mr Seddiki S. M. L.

Maître de conférences B, Centre universitaire de Naâma

Année Universitaire: 2013 - 2014

Dédicace

Dédicace

Je remercie **ALLAH** le tout puissant qui m'a donné la force et le savoir de réaliser ce mémoire

Je dédie ce travail à :

Ma mère, Aicha, en vous je vois la maman parfaite, toujours prête à se sacrifier pour le

bonheur de ses enfants

Si aujourd'hui j'ai réussi c'est pour vous et grâce à vous.

Pour toutes les souffrances que vous avez endurées,
je vous dis infiniment merci.

Je t'aime.

Mon père, en vous, je vois un père dévoué à sa famille. Sa présence en toute circonstance m'a maintes fois rappelée le sens de la responsabilité.

A la mémoire de mon grand père Belkhir, ton amour et ta gentillesse resteront gravés à jamais dans mon cœur

Ma grand-mère, ton amour et ta sollicitude à mon égard me marqueront à jamais

Mes chers sœurs et frères ; Younes, Fatima, Mouhamed, Djamel, Raid, Djihad et Nora, et à leurs enfants Mehdi-Karim et Dorgham-Chahin

Ma F Nadjet et leur aimable famille

Toute ma famille maternelle et paternelle

Tous mes amis de S.M.A alliwa-e, et de C.R.A

A Majid, Younes, Mouhamed, Rachid, Houcine, Sidahmed, Youcef, Zino et tous les autres que je n'oublierai jamais

et toute la promotion de Master biochimie appliquée : 2013/2014

Remerciements

Remerciements

Au terme de cette étude, je suis très heureux de pouvoir remercier tous ceux et celles qui m'ont accompagné et soutenu tout au long de cette année et grâce à qui j'ai pu avancer.

Je tiens à exprimer toutes mes reconnaissances et mes remerciements à la directrice M^{me} BOUCHERIT-OTMANI Zahia, directrice du laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, et Professeur au département de biologie, faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen.

A M' SEDDIKI Sidi Mohammed Lahbib, Maître assistant A au Centre Universitaire de Naama, d'avoir accepté d'encadrer ce travail avec beaucoup de disponibilité et de conseils, et qui malgré ses multiples occupations a bien voulu superviser ce modeste travail. C'est grâce à ses conseils judicieux, sa sympathie, ses précieuses informations et au soutien qu'elle m'a apportés que mon travail a pu voir le jour.

Je remercie particulièrement M^{me} BOUCHERIT-OTMANI Zahia, professeur à la faculté des SNV-STU, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider et de juger ce mémoire. Qu'elle trouve dans ce mémoire le

témoignage de ma reconnaissance et de mon respect.

Je remercie également Mme HASSAINE Hafida, professeur à la faculté des SNV-STU, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire. Je la remercie pour son expérience et son enseignement dont elle m'a fait profiter.

Je tiens à remercie SELLAH Mustapha pour leur aide, leur soutient moral, leur disponibilité, et leurs conseils.

Merci à toute l'équipe du laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique, particulièrement ; Abdelfattah et Imane, un grand merci pour leur aide, leur disponibilité, leurs conseils, et leurs compétences.

Je n'oublierai évidemment pas de remercier, du fond du cœur, tout le personnel de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia.

Table des matières

Table des matières

Introduction	2
Première partie : Synthèse bibliographique	
1. Généralités.	4
2. Infections nosocomiales fongiques	4
3. Levures de Candida sp	4
3.1. Habitat et Morphologie	4
3. 2. Taxinomie	5
4. Manifestation clinique de <i>Candida</i> sp	7
4.1. Candidoses	7
4.1.1. Candidémie	7
4.1.2. Candidurie	7
5. Infection notocomiale fongique liée aux cathéters.	8
6. Voies de contamination des cathéters	8
6.1. Voie extraluminale (externe)	9
6.2. Voie intraluminale (interne)	9
6.3. Voie hématogène	10
7. Altérations des cathéters	10
8. Infectivité fongique des cathéters	10
8.1. Contamination.	10
8.2. Colonisation	10
8.3. Infection.	11

9. Techniques d'évaluation des types d'infectivités des cathéters
9.1. Méthode semi-quantitative de Maki
9.2. Méthode quantitative
9.3. Méthode d'étude des infectivités fongiques
Deuxième Partie : Matériel et méthodes
1. Prélèvement
2. Evaluation des Types d'infectivités fongique des cathéters
2.1. Technique de Seddiki et coll. (2013)
2.2. Technique de Brun-Buisson et coll. (1987)
3. Isolement et purification des souches
4. Identification
4.1. Test de blastése (teste de germination ou de Taschdjian)
4.2. Test de chlamydosporulation
4.3. Identification par les galeries Api <i>Candida</i>
Troisième Partie : Résultats et discussion
1. Prélèvement et isolement
2. Identification des souches isolées
3. Evaluation des types d'infectivités fongique des cathéters
4. Etude comparative des dénombrements des levures par deux techniques 22
Quatrième Partie : Conclusion générale
Conclusion

Cinquième Partie : Références bibliographiques

Références bibliographiques27
Sixième Partie : Annexes
Anneve 36

Liste des figures et des tableaux

Liste des tableaux

Troisième Partie : Résultats et discussion

Tableau N°01 : Nombre des prélèvements effectués et types de cathéters
aux différents services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia ₁₇
Tableau N°02 : Espèces isolées de <i>Candida</i> sp. des différents cathéters
•
dans les services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia 18
Tableau N°03 : Taux des prélèvements positifs en 2014 et en 2008 aux
différents services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia
The 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1
Tableau N°04 : Dénombrement des cellules de levures par les deux
techniques22

Liste des figures

Première partie : Synthèse bibliographique

Figure N°1 : Morphologies de Candida sp; (A) blastospores, (B)						
pseudohyphes, (C) hyphes et (D) chlamydospores						
Figure N°2 : Arbre phylogénétique des principales levures et la relation						
entre les espèces de Candida et de Saccharomyces						
Figure N°3 : Microscopie électronique à balayage d'un cathéter vasculaire						
veineux, isolé à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia, infecté sur sa						
face interne par Candida albicans MIFKT408						
Figure N°4: Sources potentielles de contaminations d'implants intra-						
vasculaires10						

Troisième partie : Résultats et discussion

Figure	N°5	: Ta	lux	des	types	d'in	fect	ivites	fong	giques	des	cathéters	aux
service	s etu	l'í idies	dan	s l'ho	Îpital	CHA	BAN	IE HA	MDO	UNE	dc Mi	ghniauu	20
Figure	N°6	: Ré	part	ition	des	taux	de	s type	es d'i	infecti	vites	fongique	s des
cathéte	ers a	aux	serv	vices	étud	diés	à	l'hôp	ital	CHAE	BANE	HAMDO	DUNE
de Mag	hnia.												21

Introduction

Les infections nosocomiales d'origine fongique posent un véritable problème de santé publique au niveau mondial du fait de leur fréquence, leur gravité, leur coût socio-économique et leur fléau épidémiologique. Ces infections sont souvent liées à l'utilisation des dispositifs médicaux tels que les cathéters.

En Algérie, les infections nosocomiales liées aux cathéters causées par les bactéries ont été le sujet d'intenses recherches. Cependant, les infections d'origine fongique, particulièrement celles causées par *Candida* sp. sont peu étudiées.

Récemment, un taux de 16,94% des infections nosocomiales d'origine fongique liées aux cathéters est révélé par l'équipe de Boucherit-Atmani en 2011 dans leur étude à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia. Par ailleurs, en 2013 Seddiki et coll. ont adapté la technique de Brun-Buisson et coll. (1987), pour étudier les types d'infectivités fongiques des cathéters, à savoir les contaminations, les colonisations et les infections.

Dans ce contexte, notre étude consiste, d'une part, à évaluer les types d'infectivités fongiques liées aux cathéters au niveau de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia, et d'autre part, de comparer la méthode de Seddiki et coll. (2013) et celle de Brun-Buisson et coll. (1987). De plus, de suivre l'évolution des infections fongiques en comparant les résultats de notre étude à ceux de Boucherit-Atmani et ses collaborateurs obtenus en 2011 dans ce même hôpital.

Première partie

Synthèse bibliographique

1. Généralités

L'hôpital (ou tout autre établissement de soins) est considéré comme un écosystème où le patient entre en contact avec un univers microbien parfois redoutable et risque ainsi de contracter une infection que l'on qualifie de nosocomiale (terme utilisé pour la première fois en 1940 par Joyce Wright) [(Le Minore et Veron, 1990); (Beaucaire, 1997)].

Les infections nosocomiales sont un problème grave répandu dans le monde. Elles sont associées à une morbi-mortalité importante, notamment chez les patients immunodéprimés [(Streit et coll., 2004); (Sligl et coll., 2006)]. En effet, les données des dernières décennies indiquent une augmentation de la fréquence des infections nosocomiales d'origine fongique dont les candidoses qui occupent le premier rang [(Patterson, 2007); (Ouanes et coll., 2010)].

De plus, l'utilisation des dispositifs médicaux tels que les cathéters à connu un essor important, ce qui augmente la susceptibilité à l'infection nosocomiale par traumatisme des tissus [(Thomas et coll., 2004); (Boo et coll., 2005)].

2. Infection nosocomiale fongique

L'infection est définie par la pénétration, la multiplication et l'induction d'une pathologie par un agent microbien. Cependant, l'infection nosocomiale apparaisse au cours d'une hospitalisation sans aucun signe au moment d'admission à l'hôpital. Elle se manifeste généralement après 48 à 72 heures [(Carlet Jean, 2002); (Sellami et coll., 2006); (Phaneuf et Gadbois, 2010)].

La majorité des infections fongiques sont opportunistes, elles sont souvent graves, rapidement évolutives et difficiles à diagnostiquer et à traiter. Dans 80 % des cas, ces infections sont dues à des champignons levuriformes tel que *Candida* sp. qui est incriminée dans des septicémies nosocomiales avec un taux de mortalité de 40% [(Eggiman et coll., 2003); (George et Alangaden, 2011); (Parisa et coll., 2011)].

3. Levures de Candida sp.

3.1. Habitat et Morphologie

Les levures du genre *Candida* sont souvent saprophytes non pathogènes pour l'individu normal, mais, profitent d'une altération des défenses immunitaires de l'hôte pour proliférer [(Chabasse et coll., 1999); (Haynes, 2001)],

elles sont fréquemment isolées à partir des muqueuses digestif, vaginale, et de la peau [(Eggiman et coll., 2003); (Slavin et coll., 2004)].

Ces levures sont des micromycètes, se présentent sous forme de blastospores. Ce sont de petites cellules de 2 à 5 µm par 3 à 7 µm, globulaires, ovoïdes ou cylindriques selon l'espèce, non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral. Elles peuvent exister en tant que cellules de levures, hyphes, pseudohyphes ou chlamydospores [(Develoux et Bretagne, 2005); (Beucher, 2007); (Walther et Wendlend, 2008)] (Figure N°1).

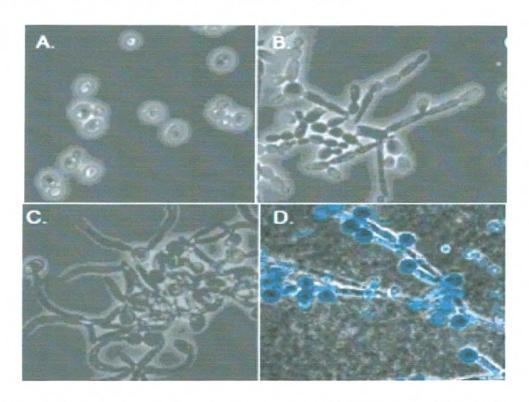


Figure N°1: Morphologies de *Candida* sp; (A) blastospores, (B) pseudohyphes, (C) hyphes et (D) chlamydospores (Ruiz-Herrera et coll., 2006).

3. 2. Taxinomie

En 2006, le nombre globale d'espèces identifiées était de 248, actuellement ce nombre dépasse les 350 espèces [(Chabasse et coll., 2006); (Williams et coll., 2011)]. Toutefois, seules quelques espèces de Candida sp. sont rencontrées en pathologie humaine, il s'agit essentiellement de Candida albicans, Candida glabrata, Candida parapsilosis, Candida tropicalis, Candida guilliermondii, Candida krusei, Candida kefyr et Candida dubliniensis [(Guarro et coll., 1999); (Colombo et coll., 2003)].

Ce sont des organismes eucaryotes appartenant au règne des champignons, au phylum des Ascomycètes, au sous-phylum des Saccharomycotina, de la classe des Saccharomycètes, de l'ordre des Saccharomycétales, du groupe des Saccharomycétales mitosporiques et du genre Candida [(James et coll., 2006); (Marcet-Houben et Gabaldon, 2009)] (Figure N°2).

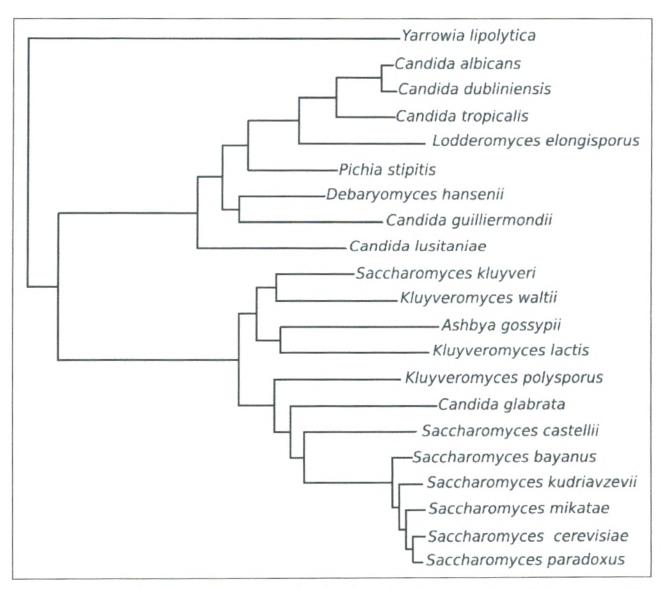


Figure N°2: Arbre phylogénétique des principales levures et la relation entre les espèces de *Candida* et de *Saccharomyces* (Marcet-Houben et Gabaldon, 2009).

4. Manifestation clinique de Candida sp.

Les mycoses sont des maladies infectieuses dues au développement et à la multiplication des champignons pathogènes dans différents tissus et organes de l'hôte, celles causées par la levure *Candida* se manifestent par les candidoses, les candidémies et les candiduries (**Guillot**, 1999).

4.1. Candidoses

Les candidoses sont des affections cosmopolites provoquées par des levures appartenant au genre *Candida* sp. (Kibbler, 2007).

Ces pathologies changent d'aspect et d'importance, allant des formes superficielles à des formes profondes, viscérales ou invasives nettement plus graves [(Raymond et coll., 2008); (Kim et Sudbery, 2011)].

Les candidoses superficielles sont de loin les plus fréquentes, elles sont habituellement bénignes et affectent la peau, les phanères ou les muqueuses (oro-pharyngée, vaginale, etc.) [(Kourkoumpetis et coll., 2010); (Pihet et Marot 2013)]. Par ailleurs, les candidoses profondes ou disséminées correspondent au développement des levures du genre Candida dans les organes profonds [(Grigul et coll., 2003); (Gigou-Cornet, 2006)].

4.1.1. Candidémies

Les candidémies sont la forme clinique la plus fréquente des candidoses profondes, elles représentent 10-20 % de tous les épisodes de celles-ci. Elles sont associées à des taux de mortalité extrêmement élevés, environ un tiers des patients infectés meurt à la suite de candidémie [(Jarvis, 1995); (Diekema et coll., 2004); (Puzniak et coll., 2004)].

4.1.2. Candiduries

Les candiduries représentent environ 40 % des infections nosocomiales fongiques. La majorité de ces mycoses est transitoire et asymptomatique, cependant elles sont plus graves chez les patients diabétique ou ayant un cathéter urinaire [(Botto, 2002); (Lavigne et Sotto, 2005)].

En effet, la pose d'un cathéter urinaire est le premier facteur responsable du développement d'une candidurie, 100% des patients sont infectés lorsqu'ils gardent le cathéter urinaire pendant une longue durée (plus de 28 jours) [(Stickler, 1999); (Passos et coll., 2005); (Hatt et Rather, 2008)].

5. Infection nosocomiale fongique liée aux cathéters

L'utilisation intense des cathéters expose les patients aux risques de contaminations à tout moment, lors de leur implantation et/ou au cours de leur manipulation. Cependant, l'infection liée aux cathéters constitue la principale complication quel que soit le type du matériel [(Boo et coll., 2005); (Boucherit-Atmani et coll., 2011)] (Figure N°3).

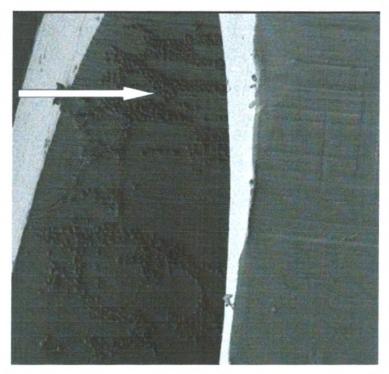


Figure N°3: Microscopie électronique à balayage d'un cathéter vasculaire veineux, isolé à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia, infecté sur sa face interne par *Candida albicans* MIFKT4. La flèche indique les cellules de levures (Grossissement x 110) (Boucherit-Atmani et coll., 2011).

6. Voies de contamination des cathéters

Candida sp. peut coloniser l'extrémité distale des cathéters par trois voies distinctes, voie externe, voie interne et voie hématogène (Carrière et Marchandin, 2001). La source extraluminale de l'infection est enregistrée surtout dans des cas de cathéters placés pour une courte durée, tandis que la source intraluminale pour des durées plus longues (Safdar et Maki, 2004) (Figure N° 4).

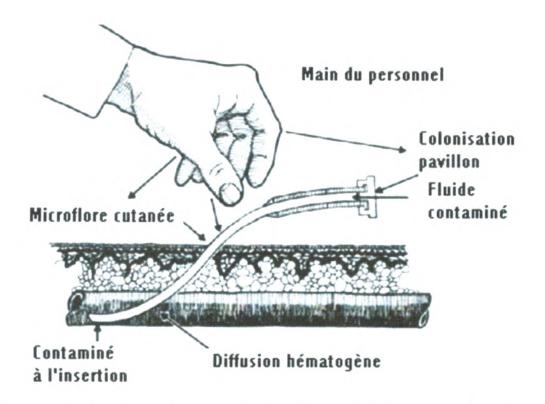


Figure N°4: Sources potentielles de contaminations d'implants intra-vasculaires (The Epidemiology Program Office, 2000).

6.1 Voie extraluminale (externe)

Cette voie est la plus fréquemment rencontrée, elle peut survenir au moment de la pose du cathéter. Une colonisation sous-cutanée secondaire du cathéter est souvent observée. Dans les deux cas, la contamination se fait à par des germes provenant du point d'entrée cutané du cathéter. Cette flore peut être la propre flore cutanée du patient ou une flore ayant colonisé son revêtement cutané (exemple mains du personnel soignant) [(Bjornson et coll., 1982); (Snydman et coll., 1982); (Gallien et coll., 2007)].

6.2. Voie intraluminale (interne)

Cette voie est liée à la contamination du pavillon du cathéter lors des manipulations répétées des tubulures et de leurs raccords, elles sont colonisées soit par la flore cutanée du patient soit par contiguïté, soit par le personnel soignant lors des manipulations. Elle prédomine pour les cathéters de longue durée ou implantés (dialyse, pacemaker) [(Reanis, 1999); (Vertes et coll., 2012); (Brun-Buisson et Parienti, 2013)].

6.3 voie hématogène

Cette voie est responsable de près de 15% des infections liées aux cathéters. La portion intravasculaire du cathéter est colonisée à partir d'une infection hématogène éloigné, ce qui provoque des septicémies récurrentes (Vertes et coll., 2012).

7. Altérations des cathéters

Les cathéters subissent fréquemment des altérations causées par les levures, ces altérations sont désignées par le terme « infectivité fongique des cathéters » (Seddiki et coll., 2013).

Quelque soit la voie par laquelle *Candida* sp. adhère à la surface des cathéters, l'infection de celui-ci est précédée par sa contamination. Selon Brun-Buisson (1994), il est important de faire la distinction entre une simple contamination des cathéters et son infection. Récemment, Seddiki et ses collaborateurs (2013) ont défini l'infectivité fongique des cathéters comme étant le degré d'altération des cathéters par les cellules fongiques.

8. Infectivité fongique des cathéters

En pratique, seule la mise en culture de l'extrémité distale du cathéter permet d'affirmer sa responsabilité dans le syndrome infectieux et ceci après son retrait [(Carrière et Marchandin, 2001); (Brun-Buisson et Parienti, 2013)]. La technique de Brun-Buisson et coll. (1987) adaptée par Seddiki et coll. (2013) permet de distingué trois types d'infectivités fongiques des cathéters : contamination, colonisation et infection.

8.1. Contamination

Selon Carrière et Marchandin (2001), la contamination du cathéter est définie par la présence d'une culture microbienne positive mais non significative (seuil de signification égale à 10³ cellules/mL) de l'extrémité distale du cathéter, en l'absence de signes locaux (pus ou cellulite) ou généraux d'infection.

8.2. Colonisation

La colonisation se définit par une culture positive de l'extrémité distale du cathéter en quantité significative, en l'absence de signes locaux ou généraux d'infection attribuables au cathéter (Carrière et Marchandin, 2001).

8.3. Infection

L'infection des cathéters est définie par la présence d'un syndrome septique et d'une culture significativement positive de l'extrémité distale du cathéter [(Brun-Buisson et coll., 1994); (Carrière et Marchandin, 2001)].

9. Techniques d'évaluation des types d'infectivités des cathéters

Les méthodes suivies pour l'évaluation des altérations bactériologiques des cathéters sont celles de maki et coll. (1977) (Méthode semi-quantitative), de Cléri et coll. (1980) et de Brun-Buisson et coll. (1987) (Méthode quantitative). Cependant, la technique de Seddiki et coll. (2013) s'intéresse à l'évaluation des infectivités fongiques des cathéters.

9.1 Méthode semi-quantitative

L'extrémité distale du cathéter est enroulée sur la surface d'une gélose au sang à l'aide de pinces stériles. L'inconvénient de cette technique est de n'explorer que la surface externe du cathéter. Le seuil de 15 Unité Formant Colonie/mL (UFC/mL) est considéré comme significatif (Maki et coll., 1977).

9.2 Méthode quantitative

En 1980, Cléri a adopté une méthode quantitative. Elle consiste à faire passer 1 mL d'un bouillon stérile dans la lumière du cathéter, puis à l'agitation de la partie distale du cathéter au vortex pendant 30 secondes. 10 μL du bouillon sont ensemencées sur gélose. Le résultat est reporté en UFC/mL.

En 1987, Brun-Buisson a modifié la technique de Cleri. La partie distale du cathéter est récupérée dans 1 mL de sérum physiologique puis agitée au vortex pendant une minute. Ces deux techniques étudient les bactéries contaminant les faces externe et interne du cathéter (Carrière et Marchandin, 2001).

9.3 Méthode d'étude des infectivités fongiques

Seddiki et coll. (2013) ont adapté la technique de Brun-Buisson coll. (1987) pour l'étude des cellules de levures. Pour cela les levures sont comptées sur cellules de Thoma après avoir passé au vortex les parties distales des cathéters pendant 1 minute.

La taille plus grosse des levures par rapport aux bactéries permet leur numération sur cellules de Thoma (Gognies et Belarbi, 2010).

Deuxième partie

Matériel et méthodes

Notre travail est réalisé au laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimique, synthèse et activité biologique de l'université de Tlemcen.

1. Prélèvements

Les prélèvements sont effectués à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia durant les mois de Février et Mars 2014. Les services concernés sont ceux de chirurgie générale, de pédiatrie, de gynécologie et médecine interne.

Selon les recommandations de Gürcüog et coll. (2010) et Quinet (2006), les prélèvements sont effectués à partir des cathéters implantés depuis 48 heures et plus, directement après leur ablation des patients.

Les extrémités distales sont coupées en utilisant un ciseau stérile, puis sont mises dans des tubes contenant 1 mL d'eau physiologique stérile. Pour éviter toute contamination, les tubes sont vite refermés après l'introduction de l'échantillon. Ils sont ramenés par la suite au laboratoire dans une glacière.

2. Evaluation des types d'infectivités fongique des cathéters

Pour l'évaluation des types d'infectivités fongique des cathéters, les tubes sont d'abord agités au vortex pendant une minute. Les techniques de Seddiki et coll. (2013) et de Brun-Buisson et coll. (1987) sont utilisées en parallèle.

2.1. Technique de Seddiki et coll. (2013)

Apres le vortexage des tubes, le dénombrement des cellules des levures est effectué directement sur cellule de Thoma en utilisant un microscope optique (Objectif x40). Les résultats sont exprimés en cellules par millilitre.

2.2. Technique de Brun-Buisson et coll. (1987)

Cette technique consiste à réalisé une mise en culture sur gélose a partir de l'échantillon après son agitation au vortex.

Pour cela, 10µL sont prélevés à l'aide d'une micropipette, puis ensemencés par étalement sur une gélose Sabouraud préalablement coulée dans des boites de Pétri. Les boites sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures à 5 jours.

Le dénombrement des levures est reporté en UFC/mL.

3. Isolement et purification des souches

Les souches sont purifiées par repiquages successifs dans des tubes contenant le milieu Sabouraud liquide et sur gélose en boites.

Chaque souche pure est ensemencée sur gélose Sabouraud inclinée en tube. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures et sont ensuite conservés à 4°C.

4. Identification

L'identification des souches isolées est basée sur leurs caractéristiques biochimique et morphologique. Les tests de microculture (blastèse et chlamydosporulation) et les galeries d'identification API Candida® (BioMérieux®, Marcy l'Etoile, France) sont utilisés.

4.1. Test de blastése (teste de germination ou de Taschdjian)

Ce test décrit par Taschdjian en 1960 et inspiré des travaux de Reynolds et Braune qui avaient montré en 1956 que les constituants du sang favorisaient la formation de filaments par certaines levures.

Pour mettre en évidence la formation des tubes germinatifs, la souche à tester est émulsionnée dans 1 mL de sérum humain, puis incubée à 37°C pendant 3 à 4 heures. L'observation est réalisée au microscope optique à l'objectif x40 (Bouchet et coll., 1989).

4.2. Test de chlamydosporulation

À l'aide d'une anse de platine, quelques colonies de la levure sont ensemencées par des stries en créant une fonte dans la gélose PCB (pomme de terre, carotte, bile de bovin). La zone ensemencée est recouverte par la suite par une lamelle stérile et la boîte est incubée à 30°C pendant 24 à 48 heures. La présence des chlamydospores est mise en évidence par observation au microscope optique (Objectif x40) (Drochey et Vieu, 1957).

4.3. Identification par les galeries Api Candida

La galerie Api candida est un moyen standardisé pour l'identification des levures du genre candida, elle comporte 10 cupules contenants des substrats déshydratés pour réaliser 12 tests d'identification (acidification des sucres ou réaction enzymatique) (BioMérieux®, Marcy l'Etoile, France 2011).

A partir d'une culture jeune de levure (18 à 24 heures), l'inoculum est ajusté à la concentration cellulaire de 10⁷, puis réparti dans les cupules de la galerie.

Pour créer l'anaérobiose, l'huile de paraffine est ajoutée aux cinq premières cupules ainsi qu'à la dernière. La galerie est ensuite incubée à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures. Le virage des couleurs dans les cupules se traduit, pour chaque souche, par l'établissement d'un code à 4 chiffres. L'identification se fait en se référant au tableau d'identification fourni avec les galeries.

Troisième partie

Résultats et discussion

1. Prélèvements et isolement

de the kil we i

112 prélèvements sont effectués à partir de 109 patients hospitalisés à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia. Le tableau N°1 regroupe le nombre des différents prélèvements effectués aux services de médecine interne, de pédiatrie, de chirurgie générale et de gynécologie, les prélèvements sont répartis comme suit :

36 prélèvements sont effectués au service de médecine interne, soit un taux de 32,15%, 32 prélèvements (28,57%) au service de pédiatrie et 22 prélèvements (19,64%) aux services de chirurgie générale et de gynécologie chacun. Les prélèvements sont effectués des cathéters périphériques (CP), des sondes urinaires (SU), et des sondes gastro-nasales (SGN).

Tableau N°01: Nombre des prélèvements effectués et types de cathéters aux différents services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia.

Services	Nombr	Total (%)		
_	CP	su	SGN	-
Médecine interne	34	2	0	36 (32,15)
Pédiatrie	32	0	0	32 (28,57)
Chirurgie générale	21	0	1	22 (19,64)
Gynécologie	22	0	0	22 (19,64)
Total	109	2	1	112 (100)

2. Identification des souches isolées

12 souches appartenant au genre *Candida* sp. sont identifiées (Tableau N°02). 8 souches de *Candida glabrata*, laquelle est l'espèce dominante, 2 souches de *Candida famata*, une seul souche de *Candida albicans* et une souche non identifiée (souche x).

La répartition des souches selon les services classe celui de médecine interne en première place avec quatre souches. Les services de chirurgie générale et de pédiatrie en deuxièmes position avec trois souches chacun et celui de gynécologie en dernier avec deux souches.

L'espèce *C. glabrata* est isolées dans tous les services étudiés, *C. famata* des services de médecine interne et de pédiatrie alors que *C. albicans* du service de chirurgie générale.

Tableau N°02 : Espèces isolées de *Candida* sp. des différents cathéters dans les services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia.

		Туре				
Services	Espèces -	СР	SU	SGN	Total	
	C. glabrata	2	1	0	3	
Médecine interne	C. famata	1	0	0	1	
	C.glabrata	2	0	0	2	
Pédiatrie	C. famata	1	0	0	1	
	C. glabrata	2	0	0	2	
Chirurgie générale	C. albicans	0	0	1	1	
	C. glabrata	1	0	0	1	
Gynécologie	Souche x	1	0	0	1	
Total		10	1	1	12	

En comparant nos résultats à ceux publiés en 2011 par Boucherit-Atmani et son équipe, nous remarquons que le taux des prélèvements positifs a diminué de 16,94% en 2008 à 10,71% en 2014 soit une différence de 6,23% (Tableau N° 03).

Cette diminution est observée particulièrement au service de gynécologie avec une diminution qui atteint 8,29% et au service de pédiatrie (12% en 2008 à 9,37% en 2014). Une légère diminution est observée au service de chirurgie générale (de 15,79% à 13,64%), en revanche, une diminution minime (0,55%) est enregistrée au service de médecine interne.

Tableau N°03 : Taux des prélèvements positifs en 2014 et en 2008 aux différents services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia.

Services	Taux de prélèvements positifs (%)						
	2014	2008 (Boucherit-Atmani et coll., 2011)					
Médecine interne	11,11	11,66					
Pédiatrie	9,37	12					
Chirurgie générale	13,64	15,79					
Gynécologie	9,1	17,39					
Total	10,71	16,94					

De plus, il ressort de notre étude une régression de *C. albicans* devant l'émergence de *C. glabrata* et d'autres souches non *albicans*. En effet, 100% des isolas cliniques appartiennent à l'espèce *C. albicans* (Boucherit-Atmani et coll., 2011). Cependant, au cours des deux dernières décennies, nous assistons à l'émergence des espèces non-albicans. Ces dernières sont majoritaires dans les candidémies nosocomiales liées aux cathéters [(Ruan et coll., 2009); (Abbès et coll., 2011)]. De plus, l'étude réalisée par Seddiki et ses collaborateurs au CHU de Sidi Bel Abbès révèle la dominance de *C. glabrata*.

3. Evaluation des types d'infectivites fongique des cathéters

Les résultats des types d'infectivités fongiques des cathéters à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia sont représentés sur la figure N°05.

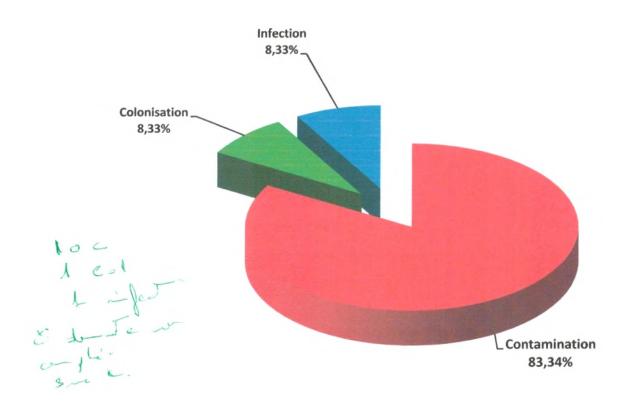


Figure N°05 : Taux des types d'infectivites fongiques des cathéters aux services étudiés dans l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia.

Selon cette figure, les contaminations des cathéters sont dominantes à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia, elles sont enregistrées avec un taux de 83,34%. En revanche, le taux des infections est comparable à celui des colonisations, soit 8,33% des cas.

La répartition des types d'infectivités fongiques des cathéters dans chaque service étudié est représentée dans la figure N°06.

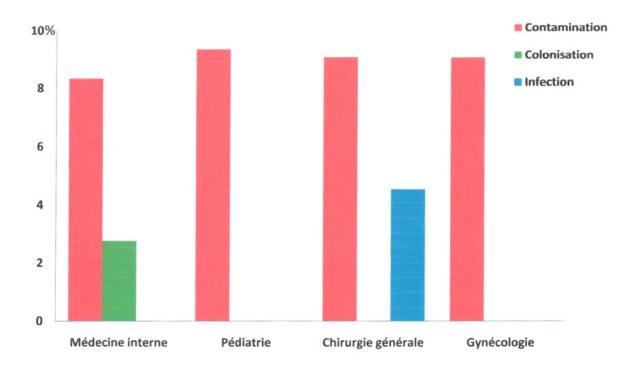


Figure N°06 : Répartition des taux des types d'infectivites fongiques des cathéters aux services étudiés à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia.

Selon cette figure, la contamination des cathéters est dominante dans tous les services étudiés à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia. Pour les infections, un taux de 4,54% est enregistré seulement dans le service de chirurgie générale. Par ailleurs, 2,77% colonisations sont enregistrées dans le service de médecine interne. En revanche, aucun cas de ce type d'infectivités n'est observé dans les autres services.

En se référant aux travaux de Carrière et Marchandin en 2001, trois types d'infectivités des cathéters sont distingués : contamination, colonisation et infection.

Selon l'étude de Seddiki et coll. en 2013, les contaminations des cathéters sont le type d'infectivité fongique dominant.

4. Etude comparative des dénombrements des cellules de levures par les deux techniques

Les résultats relatifs au dénombrement des levures, selon la technique de Seddiki et coll. (2013) et celle de Brun-Buisson et coll. (1987) sont regroupés au tableau N° 04.

Deux prélèvements n'ont révélé aucune forme de levure par la technique de Seddiki ni de colonie par la technique de Brun-Buisson. Quatre échantillons se sont révélés positifs par la technique de Seddiki et coll. (2013) mais n'ont donnés aucune colonie par ensemencement sur gélose par la technique de Brun-Buisson et coll. (1987). En revanche, un seul prélèvement a permis d'avoir deux colonies sur gélose, mais son dénombrement sur cellule de Thoma n'a révélé aucune levure.

D'un autre coté, cinq échantillons se sont révélés positifs avec les deux techniques. Il est à noter que tous les résultats sont rapprochés les uns des autres visa vis des deux techniques utilisées (Tableau N° 04).

Tableau N°04: Dénombrement des cellules de levures par les deux techniques.

Souche*	Seddiki et coll. (2013)	Brun-Buisson et coll. (1987)
M.F.63.SU	100	Non dénombrable
M.F.51.CP	3	0
M.F.58.CP	0	2
M.H.68.CP	0	0
P.H.46J.CP	2	1
P.F.11J.CP	2	0
P.F.6J.CP	4	0
C.H.41.CP	4	1
C.H.75.SGN	35	Non dénombrable
C.H.65.CP	0	0
G.F.27.CP	4	0
G.F.29.CP	2	1

^{*}souches prélevées (Annexe N°01)

Selon plusieurs auteurs, la technique quantitative de Brun-buisson et coll. (1987) permet d'examiner les faces internes et externes des cathéters, elle exprime le nombre des cellules détachées des cathéters suite à leur mise au vortex pendant une minute en UFC/mL [(Brun-Buisson et coll., 1987); (Brun-Buisson et coll., 1994); (Carrière et Marchandin, 2001)].

La technique de Seddiki et coll. (2013) est inspirée de celle de Brun-buisson et coll., (1987) et adoptée aux levures en utilisant les cellules de Thoma pour le dénombrement des levures. De plus, cette technique est rapide, elle permet d'avoir le résultat en quelques minutes.

Quatrième partie

Conclusion générale

En Algérie, comme la majorité des pays du monde, la fréquence des infections nosocomiales fongiques, particulièrement les candidoses, restent toujours en augmentation constante. Cette progression constitue un fardeau majeur, de fait de la morbi-mortalité élevée. Elle est liée à l'utilisation intense des implants médicaux notamment les cathéters.

A partir de 112 prélèvements effectués dans quatre services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia (Médecine interne, pédiatrie, chirurgie générale et gynécologie), 12 souches appartenant au genre *Candida* sp. sont isolées. Il ressort de cette étude l'émergence des espèces non-albicans de *Candida*. *C. glabrata* qui occupe le premier rang avec un taux de 75%, suivi de *C. famata* et *C. albicans* avec des taux inferieurs.

En comparant nos résultats à ceux de Boucherit-Atmani et coll. 2011, la régression de *C. albicans* devant l'émergence de *C. glabrata* est clairement importante.

Par ailleurs, trois types d'infectivités fongique sont distingués, les contaminations, les colonisations et les infections avec la dominance des contaminations.

L'étude comparative entre la technique de Seddiki et coll. (2013) et celle de Brun-Buisson et coll. (1987) révèle des différences entre le dénombrement sur cellule de Thoma et la culture sur gélose.

En raison des difficultés trouvées dans leur diagnostic et ses taux de mortalité élevés, des approches prophylactiques sont proposées.

La prévention des infections liées aux cathéters est donc obligatoire, elle s'appuie sur le changement de comportement reflétant l'éducation du personnel soignant par des règles d'hygiène et des protocoles de soins régulièrement enseignés:

- L'hygiène corporelle correcte.
- Le lavage soigneux des mains, ou leur friction avec un produit hydroalcoolique.
- Le port des gants ne doit pas se faire au détriment de l'hygiène des mains.
- La bonne méthode d'insertion du cathéter en respectant les conditions d'asepsie aidera à empêcher ou diminuer le taux de ces infections.
- La sensibilisation du personnel hospitalier concernant la gravité des infections nosocomiales fongique.

Cinquième partie

Références bibliographiques

- Abbès S., Sellami H., Sellami A., Makni F., Mahfoudh N., Makni H., Khaled S. and Ayadi A. (2011) Microsatellite analysis and susceptibility to FCZ of Candida glabrata invasive isolates in Sfax Hospital, Tunisia. Med Mycol; 49: 10-15.
- Beaucaire G. (1997) Infections nosocomiales. Epidémiologie, critères du diagnostic, prévention, principe de traitement. La revue du praticien;
 47: 201–209. (NosoBase n° 3734).
- 3. Beucher B. (2007) Spécificité antigénique de l'Als3p de Candida albicans et implication de cette protéine dans l'interaction avec les constituants de l'hôte. Thèse de Doctorat, Spécialité Microbilogie, Université d'Angers, France; n° 839.
- 4. Bjornson H. S., Colley R., Bower R. H., Duty V. P., Schwartz-Fulton J.T., Fischer J.E. (1982) Association between microorganism growth at the catheter insertion site and colonization of the catheter in patients receiving total parenteral nutrition. Surgery; 92: 720-5.
- Boo T.W., O'Reilly B., O'Leary J., Cryan B. (2005) Candidémia in an Irishtertiary referral hospital: Epidemiology and prognostic factors. Mycoses; 48: 251-9.
- 6. Botto H. (2002) Infections urinaires nosocomiales de l'adulte, texte court.
 Médecine et maladies infectieuses; 33: 370-3.
- 7. Boucherit-Atmani Z., Seddiki S.M.L., Boucherit K., Sari-Belkharoubi L., Kunkel D. (2011) Candida albicans biofilms formed into catheters and probes and their resistance to amphotericin B. Journal de Mycologie Médicale; 21: 182-187.
- Bouchet P., Guignard J.L., Madulo-Leblond G. and Regli P.(1989)
 Mycologie général et médical. Ed Masson. Paris ; 107-20.
- Brun-Buisson C., Parienti J.J. (2013) Infections de cathéters intravasculaires en réanimation; in Charbonneau. P et Wolff. M Infectiologie en réanimation Springer-Verlag Paris: 423-439.
- 10. Brun-buisson C. (1994) analyse critique des méthodes diagnostiques d'infection liée au cathéter sur matériel enlevé *réan. urg.*, 3 (3 bis), 343-346.

- Brun-Buisson C., Abrouk F., Legrand P., Huet Y., Larabi S. and Rapin M.
 (1987) Diagnosis of central venous catheter-related sepsis, critical level of quantitative tips cultures. Arch. Intern. Med.; 147: 873-7.
- 12. Carlet Jean. (2002) Les infections liées aux soins médicaux adsp n° 38 mars.
- **13.** Carrière C., et Marchandin H. (2001) Infections liées aux cathéters veineux centraux: diagnostic et définitions : *Néphrologie* ; 22 (8) : 433-437.
- Chabasse D., Guiguen CL, Contet-Audonnea N., (1999) Mycologie médicale. MASSON. Paris.
- **15.** Cleri D.G., Corrado M.L., Seligman S.J. (1980) Quantitative culture of intravenous catheters and other intravascular inserts. *J. Infect .Dis*; 141:781-6.
- 16. Colombo A.L., Perfect J., DiNubile M., Bartizal K., Motyl M., Hicks P. Lupinacci R., Sable C. et Kartsonis N. (2003) Global distribution and outcomes for Candida species causing invasive candidiasis: results from an international randomized double-blind study of caspofungin versus amphotericin B for the treatment of invasive candidiasis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis; 22: 470-474.
- 17. Develoux M, Bretagne S. (2005) Candidiasis and yeast infections. *EMC Maladies Infectieuses*.;2(3): 119–139.
- 18. Diekema D.J., MesserR.J., Hollis R., Jones N., Pfaller M.A. (2004)

 Nosocomial candidemia: an ounce of prevention is better than a pound of cure. Infect Cont Hosp Epidemiology; 25: 624-6.
- **19. Drochey E. and Vieu M. (1957)** (Biology of *Candida* infections laboratory diagnosis; study of 342 strains of *Candida* isolated from pathological specimens). *Sem Hop*; 33(13/2): 793-807.
- 20. Eggiman P., Garbino J., and Pittet D. (2003) Epidemiology of Candida species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. Lancet Infect Dis; 3: 685-702.
- 21. Gallien S., Sordet F. and Enache-Angoulvant A., (2007) Traitement des candidémies chez un patient porteur d'un cathéter vasculaire, Journal de Mycologie Médicale; 17: 42-4.

- **22. George J. Alangaden. (2011)** Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control, and Prevention. *Infect Dis Clin N* Am 25: 201–225.
- 23. Gigou-Cornet M. (2006) Rôle des gènes RIM et VPS dans la signalisation du pH, la virulence et la résistance aux antifongiques chez la levure Candida albicans. Thèse de Doctorat, Institut national agronomique Paris-Grignon, France.
- **24. Gognies S. and Belarbi A. (2010)** Use of a new gelling agent (Eladium©) as an alternative to agar-agar and its adaptation to screen biofilm-forming yeasts. Appl Microbiol Biotechnol; 88: 1095-1102.
- **25. Grigul L., Beier R., Schrauder A. (2003)** Invasive fungal infections are responsible for one fifth of the infectious deaths in children with ALL. *Mycoses*; 46:441–6.
- 26. Guarro J., Gené J. and Stchigel A.M. (1999) Developments in Fungal Taxonomy. Clin. Microbiol. Rev; 12: 454-500.
- **27. Guillot J. (1999)** Diagnostic biologique des mycoses animales. *Rev Fr Lab* 310: 57–64.
- 28. Gürcüog lu. E., Akalin H., Ener B., Ocakoglu G., et coll. (2010) Nosocomial candidemia in adults: Risk and prognosticfactors. J Mycol Med; 20(4):269-78.
- 29. Hatt J.K and Rather P.N. (2008) Current Topics In Microbiology And Immunology [Curr Top Microbiol Immunol], Publisher: Springer Verlag; 322: 163-92.
- 30. Haynes K. (2001) Virulence in Candida species. Trends in Microbiology; 9 (12): 591 596.
- 31. James T. Y., Kauff F., Schoch C. L., Matheny P.B. et coll. (2006)
 Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny.

 Nature; 443: 818-22.
- **32. Jarvis RW. (1995)** Epidemiology of nosocomial fungal infections with emphasis on Candida species. *Clin Infect Dis*; 20: 1526–1530.
- **33. Kibbler C. (2007)** Evolution de l'épidémiologie des candidoses et aspergilloses invasives. *Médecine et maladies infectieuses*; 37:2-4.

- **34. Kim J., and Sudbery P. (2011)** *Candida albicans*, a major human fungal pathogen. *J.Microbiol.*; 49(2): 171-177.
- 35. Kourkoumpetis T., Manolakaki D., Chang Y., Alam H B., Manolakaki D., Velmahos G., Kourkoumpetis T., Chang Y., Alam H.B., De Moya M.M., Mylonakis E. (2010) Candida infection and colonization among non-rauma emergency. Surgery patients virulence 1:5, 359-66.
- **36.** Lavigne J-P.,and Sotto A. (2005) Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Parasitologie, Service de Medcini interne B, Groupe Hospitalo-Universitaire de Carémeau, CHU de Nimes, *France Prog Urol*; 1:213-6.
- **37.** Laxson LB., Blaser MJ., Parkhurst SM. (1984) Surveillance for the detection of nosocomial infections and the potential of nosocomial outbreaks. *Am J Infect Control* 12:318–1324.
- **38.** Le Minore L. et Veron M. (1990) Bactériologie médicale, 2ème édition *Médecine Sciences Flammarion*.
- **39. Maki D. G., Jarretf F., and Sarafin H.W. (1977)** A semi quantative culture method for identification of catheter-related infection in the burn patient. *J. Surg. Res*; 22:513-20.
- **40. Marcet-Houben M., and Gabaldon T. (2009)** The tree versus the forest: the fungal tree of life and the topological diversity within the yeast phylome. *PLoS One*; 4: e4357.
- 41. Ouanes A., Kouais A., Marouen S., Sahnoun M., Jemli B., Gargouri S. (2013) Apport du milieu chromogène CHROMagarW Candida dans le diagnostic mycologique des levures. Mycologie Médicale: 23, 237—241.
- **42. Parisa B., Abdolvahab A., Mehrvash J. (2011)** Molecular assay to detect nosocomial fungal infections in intensive care units. *European Journal of Internal Medicine*: 22 611–615.
- 43. Passos XS., Sales WS., Maciel PJ, Costa CR., Miranda KC., Lemos JdeA. (2005) Candida colonization in intensive care unit patients' urine. Mem Inst Oswaldo Cruz; 100:925–8.
- **44. Patterson T. F. (2007)** Treatment and prevention of fungal infections. Focus on candidemia. *New York: Applied Clinical Education*; p. VII–VIII.

- **45. Phaneuf M.I., and Gadbois D.C. (2010)** Les infections nosocomiales Agir ensemble pour des milieux cliniques sains et sécuritaire, *inf., M. SC. Inf., MAP Infirees sources*;1-22.
- **46. Pihet Marc et Marot Agnes. (2013)** Diagnostic biologique des candidoses. *Elsevier Masson SAS*; Revue Francophone des Laboratoires n°450.
- 47. Puzniac L., Teutsch S., Powderly W., Polish L. (2004) Has the epidemiology of nosocomial candidemia changed. Infect Control Hosp Epidemiol; 628-33
- 48. Raymond S., Henon T., Grenouillet F., Legrand F., Woronoff- Lemsi M. C., Hoen B., Limat S., Leroy J. (2008) Audit clinique des prescriptions d'antifongiques systémiques coûteux. Centre hospitalier Universitaire de Besancon.
- **49.** Ruan S.Y., Huang Y.T., Chu C.C., Yu C.J. and Hsueh P.R. (2009) Candida glabrata fungaemia in a tertiary centre in Taiwan: antifungal susceptibility and outcomes. International Journal of Antimicrobial Agents; 34: 236–239.
- 50. Ruiz-Herrera J., Elorza M.V., Valentin E. and Sentandreu R., (2006) Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res*; 6: 14-29.
- **51. Safdar N., and Maki D. G. (2004)** The pathogenesis of catheter-related bloodstream infection with noncuffed short-term central venous catheters. *Intensive Care Med.*; **30**: 62-7.
- 52. Seddiki S.M.L.,Otmani Boucherit Z., Boucherit K., Badsi-Amir S., and Taleb M., Kunkel D. (2013) Assessment of the types of catheter infectivity caused by Candida species and their biofilm formation. First study in an intensive care unit in Algeria. Intrnational Journal of General Medecine; 6 1-7.
- 53. Sellami. H, Sellami. F, Makni. M, Bahloul. F, Cheikh-Rouhou, Bouaziz. M, Ayadi. A. (2006) La candidurie en milieu de réanimation : signification et intérêt de la numération des levures dans les urines. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation 25, 584–588.

- 54. Slavin M., Fasteneau J., Mavros P., Crowley S., Greth W. (2004) burden of hospitalization of patients with Candida and Aspergillus infections in Australia. Int J Infect Dis; 8:111-120.
- 55. Sligl W, Taylor G, Brindley PG. (2006) Five years of nosocomial Gramnegative bacteremia in a general intensive care unit: epidemiology, antimicrobial susceptibility patterns, and outcomes. Int J Infect Dis; 10:320—5.
- 56. Snydman D. R., Gorbea H. F., Pober B. R., Majka J. A., Murray S.A, Perry L.K. (1982) Predictive value of surveillance skin cultures in total parenteral nutrition-related infections. Lancet; 2: 1385 8.
- 57. Stickler D. (1999) Biofilms. Current Opinion in Microbiology; 2: 270 275.
- 58. Streit JM, Jones RN, Sader HS, Fritsche TR. (2004) Assessment of pathogen occurrences and resistance profiles among infected patients in the intensive care unit: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (North America, 2001). Int J Antimicrob Agents;24:111—8.
- **59. The Epidemiology Program Office, (2000)** Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA 30333.
- 60. Thomas, J.G., Ramage, G., and Lopez-Ribot, J.L. (2004) Biofilms and implant infections. In: Ghannoum, M., and O'Toole, G.A., eds., Microbial Biofilms. Washington, D.C.: ASM Press: 269–293.
- 61. Vertes A., Hitchins V and Scott Phillips K. (2012) Microbial colonization of medical devices is a widespread problem that tests the limits of conventional analytical methods. Successful analytical endeavors require collaboration between clinicians, microbiologists, biomedical engineers, and analytical chemists. Anal. Chem., 84, 3858–3866.
- **62. Walther A. and Wendland J. (2008)** Hyphal Growth and Virulence in Candida albicans, Human and Animal Relationships; 2nd Edition, The Mycota VI.
- 63. Williams D.W., Kuriyama T., Silva S., Malic S. and Lewis M.A. (2011)

 Candida biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. Periodontol 2000; 55: 250-265.

Sixième partie

SexennA

Annexe 1: Résultats des prélèvements effectués aux différents services de l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia.

A. Médecine interne

Patient							au laboratoire
rélèvement	Sexe	Sexe Age Durée de Durée (Ans) séjour d'implantation Antibiothéra (Jours) (Jours)			Incubation	Souches isolées	
CP1	Н	77	4	3	Claforan	_	-
CP2	F	60	3	3	Amoxicilline	-	_
CP3	F	75	6	3	Claforan	_	_
CP4	F	30	3	3	Claforan Gentamicine	-	-
CP5	F	82	3	3	Claforan	_	
CP6	Н	85	7	3	Claforan	_	-
CP7	Н	30	2	2	Claforan	_	_
CP8	F	64	4	4	Claforan	_	-
CP9	F	43	6	6	Claforan	_	_
					Gentamicine	_	-
CP10	F	71	5	5	-	-	-
CP11	F	70	4	4	_	-	-
CP12	F	76	6	4	Claforan Ciprolon	-	-
CP13	F	60	4	4	-	-	-
CP14	F	87	6	6	-	-	-
CP15	Н	81	7	2	-	-	-
CP16	Н	71	3	3	-	-	-
CP17	F	72	6	3	Claforan Flagyl	-	-
CP18	F	68	4	4	Claforan Flagyl	-	-
CP19	F	60	5	2	Claforan	-	-
CP20	F	18	5	2	Ciprolon	_	-
CP21	F	60	5	3	Claforan	-	-
CP22	F	64	3	3	Claforan	-	-
CP23	F	63	8	5	Claforan Ciprolon	-	-
CP24	F	70	5	4	-	_	-
CP25	F	51	5	4	Claforan	+	C.famata
CP26	F	58	4	2	_	+	C.glabrata
CP27	F	67	4	4	Claforan Gentamicine	-	-
CDOS	F	52	6	2	Ampicilline	-	_
CP28	H	68	7	3	-	+	C.glabrata
CP29	-	72	5	3		-	-
CP30	H			4	Cephacidal	-	_
CP31	F	90	6	4	Cepitacidai	-	-
CP32	H	74	4		Conhacidal		
CP33	H	85	2	2	Cephacidal	-	-
CP34	F	22	2	2	Cinnole:	-	-
SU1 SU2	F	85 63	8	7	Ciprolon Claforan	+	C.glabrata
					Ciprolon		

B. Pediatrie

Patien	-					Expertise au	ı laboratoir	
P	Sex e	Age Durée de Durée (Ans) séjour d'implantation (Jours) Antibid		Antibiothérapie	(cellule/mL)	Souches isolées		
CP1	Н	2M	3	3	Amoxicilline	-	-	
CP2	Н	10 Mois	4	4	Ampicilline Gentamicine	-	-	
CP3	Н	18 Mois	4	4	Amoxicilline Ampicilline Gentamicine	-	-	
CP4	Н	3 Jours	3	3	Claforan	-	-	
CP5	F	5 Jours	5	3	Claforan Ampicilline Gentamicine	-	-	
CP6	Н	5 Jours	5	3	Claforan Ampicilline Gentamicine	-	-	
CP7	Н	5 _{Jours}	5	2	Claforan	-	-	
CP8	Н	5 _{Mois}	7	3	Cortisone Amoxil	-	-	
CP9	Н	6	4	4	Amoxil	-	-	
CP10	Н	4	5	3	Claforan Gentamicine Perfalgan	-	-	
CP11	Н	11	4	2	Claforan	-	-	
CP12	F	41 Jours	3	2	Claforan	-	-	
CP13	F	52J	4	2	Claforan	-	-	
CP14	Н	2 Mois	6	3	ННС	-	-	
CP15	F	4	4	3	Pénicilline G	-	-	
CP16	F	5	5	3	Claforan Gentamicine	-	-	
CP17	F	23 Jours	6	2	Ampicilline Gentamicine	-	-	
CP18	Н	46	6	2	Claforan	+	C.glabrata	
CP19	F	Jours 11 Jours	4	3	Claforan	+	C.glabrata	
CP20	Н	1	7	2	ННС	-	-	
CP21	F	5 Mois	3	3	ННС	-	-	
CP22	Н	6			-	-	-	
CP23	Н	11	5	3	Clamoxyl	-	-	
CP24	F	2	4	3	Claforan		-	
CP25	Н	2	3	3	Claforan	-	-	
CP26	Н	2 Jours	2	2	_	-	-	
CP27	Н	2 Jours	2	2	-	-	-	
CP28	Н	4 Jours	2	2	-	-	-	

CP29	F	6 Jours	4	2	-	+	C.famata
CP30	F	6 Jours	4	2	-	-	-
CP31	Н	20 Jours	4	2	-	-	-
CP32	F	5 Jours	3	2	-	-	-

C. Chirurgie générale

Patien						Expertise au	laboratoire	
P	Sex e	Age (Ans)	Durée de séjour (Jours)	Durée d'implantation (Jours)	Antibiothérapie	(cellule/mL)	Souches isolées	
CP1	Н	36	5	5	Claforan	-	-	
CP2	Н	44	4	4	Claforan	-	-	
CP3	Н	23	4	3	Amoxicilline	-	-	
CP4	Н	71	7	5	Claforan	-	-	
CP5	Н	58	4	2	Claforan	-	-	
CP6	F	65	5	3	Claforan	-	-	
CP7	Н	64	6	6	Claforan Gentamicine Flagyl	е		
CP8	Н	78	7	7	Claforan Gentamicine	-	-	
CP9	Н	42	3	3	Bristopen	-	-	
CP10	Н	45	4	3	Cephacidal	-	-	
CP11	Н	41	5	2	Cephacidal	+	C.glabrata	
CP12	F	74	7	2	Cephacidal Flagyl	-	-	
CP13	Н	60	2	2	Cephacidal	-	-	
CP14	Н	64	3	3	Claforan	-	-	
CP15	F	18	3	3	Claforan	-	-	
CP16	Н	51	6	6	Claforan	-	-	
CP17	Н	75	4	4	Cephacidal	-	-	
CP18	Н	65	5	5	Cephacidal	+	C.glabrata	
CP19	Н	80	4	4	Cephacidal	-	-	
CP20	F	45	14	2	Claforan	-	-	
CP21	Н	35	5	3	Claforan	-	-	
SGN1	Н	75	4	4	Cephacidal	+	C.albicans	

SGN: sonde gastro-nasal

- re for ju je

enogen de whole glike

D. Gynécologie

			Pati	ent		Expertise at	ı laboratoir	
Р	Sexe	Age (Ans)	Durée de séjour (Jours)	Durée d'implantation (Jours)	Antibiothérapie	Numération (cellule/mL)	Souches isolées	
CP1	F	30	6	4	-	-	_	
CP2	F	23	3	3	-	-	-	
CP3	F	35	4	4	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
CP4	F	44	4	4	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
CP5	F	21	7	2	_	_	-	
CP6	F	29	4	4	-	-	_	
CP7	F	21	4	4	-	-	_	
CP8	F	26	4	4	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
					Lovenox			
CP9	F	41	7	3	_	-	-	
CP10	F	35	2	2	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
CP11	F	37	2	2	-	-	-	
CP12	F	21	10	5	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
					Flagyl			
CP13	F	23	4	4	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
					Flagyl			
CP14	F	42	5	3	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
					Flagyl			
CP15	F	26	8	5	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
CP16	F	24	3	3	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			
					Lovenox			
CP17	F	41	5	3	Cephacidal	-	-	
~=10					Gentamicine		G 1 W	
CP18	F	27	2	2	Ampicilline	+	Souche X	
OD10	_				Gentamicine			
CP19	F	27	6	6	Ampicilline	-	- C 1.1	
CP20	F	29	2	2	Cephacidal	+	C.glabrata	
CP21	F	32	4	2	-	-	•	
CP22	F	19	3	2	Cephacidal	-	-	
					Gentamicine			

Annexe 2:

Nombre et types d'infectivites fongique des différents types des cathéters prélevés dans chaque service.

Services	Contamination			Colonisation			on	Infection		
	СР	SU	SGN	-	CP	SU	SGN	CP	SU	SGN
Médecine interne	3	0	0	-	0	1	0	0	0	0
Pédiatrie	3	0	0		0	0	0	0	0	0
Chirurgie générale	2	0	0		0	0	0	0	0	1
Gynécologie	2	0	0		0	0	0	0	0	0
Total	10	0	0		0	1	0	0	0	1
Taux (%)		83,34				8,33			8,33	

Annexe 3:

Milieu de culture:

Les milieux sont préparés dans un litre d'eau distillée :

- Sabouraud liquide:
 - Extrait de levure 3g
 - Peptone 10g
 - Glucose 20g
 - Chloramphénicol 0,5g (pour l'inhibition de la flore bactérienne)
- Sabouraud agar:
 - Extrait de levure 3g
 - Peptone 10g
 - Glucose 20g
 - Agar 20g
- Pomme de terre, carotte, bile de bovin (PCB) :
 - Pulpe de carotte 20g
 - Pulpe de pomme de terre 20g
 - Agar 20g
 - Bile de bovin 15%

Annexe 4:

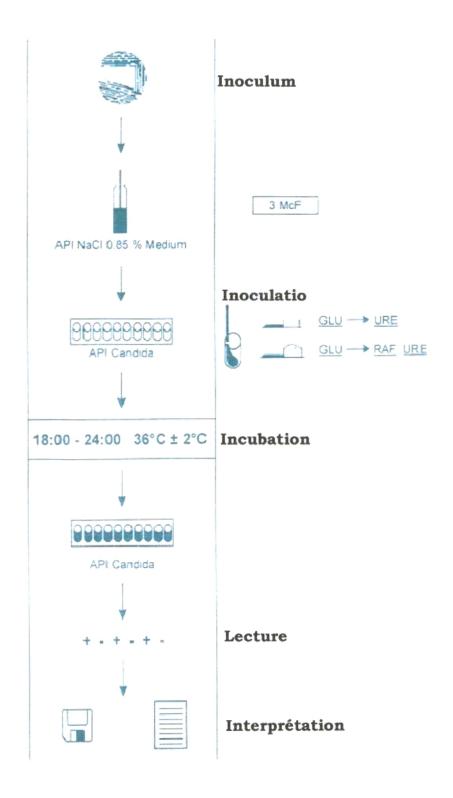
L'ensemencement de la galerie API Candida doit être réalisé avec un inoculum calibré à Mc Farland 3, soit environ 10^7 levures/mL.

Solution standard Mc Farland 3.0:

Chlorure de barium solution de 0,48M3,0 mL
Acide sulfurique, solution de 0,18M97,0 mL
D.O. à 625 nm au spectrophotomètre0.08-0.1

Annexe 5:

Méthode d'ensemencement de la galerie API Candida (Bioméreiux).



Catalogue API Candida pour diagnostic in vitro; Biomérieux.

الملخص

إن العدوى الفطرية الغازية تمثل مشكلة صحية حقيقية للمرضى في المستشفى. عدة كائنات مجهريه هي السبب في هذه الإلتهابات مثل candida sp عتلة المرتبة الأولى. في الواقع، إن الزيادة في هذه الإلتهابات في العقود الأخيرة هو مواز تقريبا للزيادة في الاستخدام الواسع لمجموعة من الأجهزة الطبية مثل القسطرة.

أهمية هذه الدراسة هو تقييم أنواع العدوى الفطرية للقسطرة بمستشفى شعبان حمدون بمغنية، باتباع طريقتين، إذ تجلى تقارب كلتيهما. المصلحة من هذه الدراسة هو متابعة تطور عدوى المستشفيات الفطرية في هدا المستشفى، بمقارنة نتائجنا مع التي تحصل عليها (2011). Boucherit-Atmani coll

من أصل 112 عينة تم نزعها من المرضى على مستوى أربعة مصالح (الطب الداخلي، طب الأطفال، الجراحة العامة وأمراض النساء)، تم عزل 12 خميرة بنسبة 10,71 ويبدو من هذه الدراسة ازدياد C. glabrata التي تحتل المرتبة الأولى بنسبة 75٪؛ كما تم عزل Boucherit-Atmani et coll. (2011)، يظهر انخفاض قدره 6.23٪ في معدل الالتهابات الفطرية في المستشفى خلال هذه السنوات الثلاث الأخيرة.

علاوة على ذلك، تم الحصول على ثلاثة أنواع من التهابات القسطرة الفطرية: التهابات بنسبة 83.34٪، استعمار جرثومي و عدوى (8.33٪) لكل منهما.

الكلمات المفتاحية : العدوى ، القسطرة ، الاحتلال الجرثومي, Candida sp

Résumé

Les infections nosocomiales d'origine fongiques constituent un réel problème de santé public. Plusieurs microorganismes sont à l'origine de ces infections, dont les candidoses qui occupent le premier rang.

L'importance de notre étude est l'évaluation des types d'infectivités fongique des cathéters à l'hôpital CHABANE HAMDOUNE de Maghnia par deux techniques et de suivre l'évolution des infections nosocomiales fongique dans cet hôpital, en comparant nos résultats avec celle de Boucherit-Atmani et coll. (2011).

Sur 112 prélèvements, un total de 12 souches de levures isolées de quatre services (Médecine interne, pédiatrie, chirurgie générale et gynécologie), soit un taux de 10,71%. Il ressort de cette étude l'émergence de *C. glabrata* qui occupe le premier rang avec un taux de 75%; alors que *C. albicans*, *C. famata* et d'autres souches sont aussi isolées avec des taux inferieur. En comparant ces résultats avec ceux de Boucherit-Atmani et coll. (2011), une diminution du taux d'altérartion fongiques des cathéters de 6,23% est enregistrée dans cet hôpital.

Outre, trois types d'infectivites fongique des cathéters sont distingués: contamination soit un taux de 83,34%, colonisation et infection (8,33%) chacun.

Mots clés: infections nosocomiales, Candida sp, infectivité fongique, dispositifs médicaux.

Summery

Fungal Nosocomial infections were a real problem of public health. Several microorganisms are the cause of these infections, including candidiasis which caused by *Candida* yeasts ranked first.

The importance of this study is the evaluation of fungal infectivities kinds of catheters in CHABANE HAMDOUNE hospital of Maghnia by two techniques.

The interest of this study is also to follow the evolution of fungal nosocomial infections in the hospital by comparing our results with those of Boucherit-Atmani et al. (2011).

From 112 samples in four services (internal medicine, pediatrics, general surgery and gynecology), a total of 12 yeast strains were isolated with a rate of 10.71%. It appears from this study an emergence of *C. glabrata* which ranks first with a rate of 75%; then *C. albicans, C. famata* and other strains with lower rate. Comparing these results with those of Boucherit-Atmani et *al.* (2011), it showed a decrease of 6.23% in the rate of fungal infections in the hospital during these last five years.

Furthermore, three types of fungal infectivities catheters are distinguished: a contamination whether rate 83.34%, colonization and infection (8.33%) each.

Key words: nosocomials infections, Candida sp, fungal infectivity, implanted medical devices.